



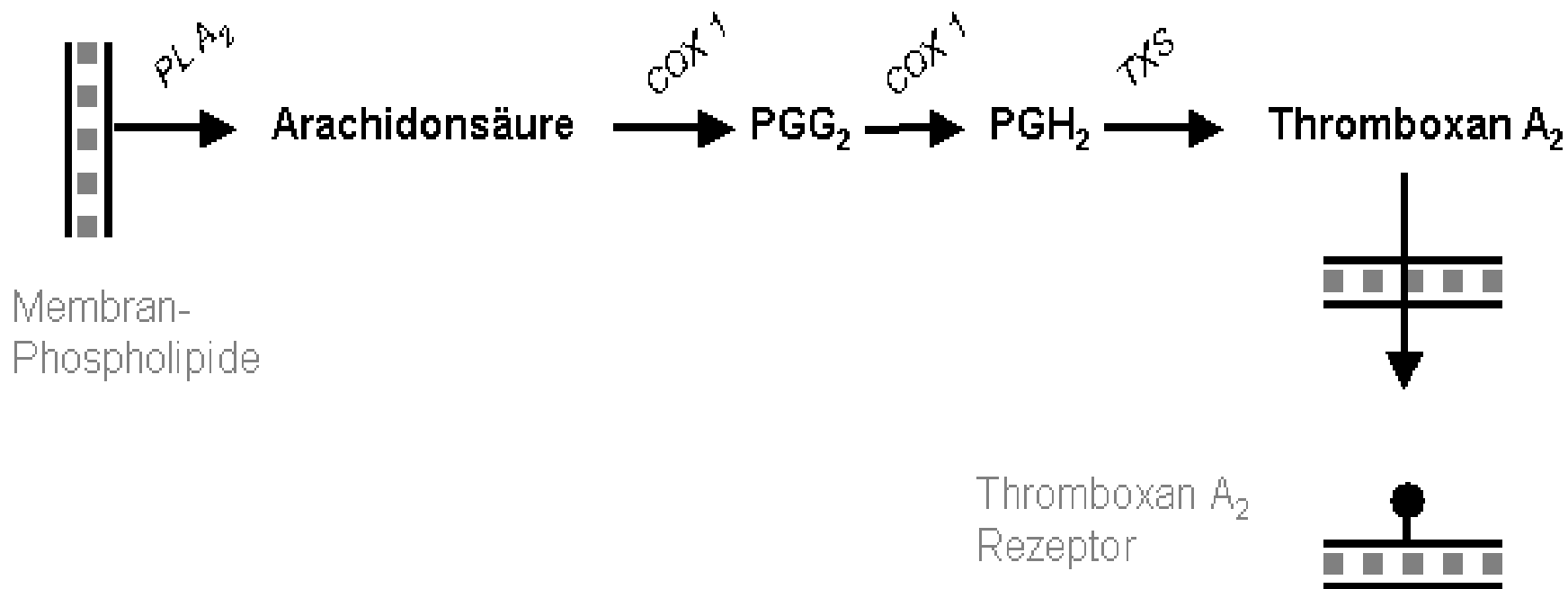
Hereditäre Thrombozytopathien

Ralf Knöfler

Universitätsklinikum Carl Gustav Carus Dresden
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Bereich Hämostaseologie

- **hereditäre Formen als heterogene Gruppe seltener Erkrankungen (THROMKID-Projekt: ~2 pro 1 Mio.); erhebliche Anzahl nichtdiagnostizierter Patienten anzunehmen**
- **mehrere Verfahren zur Thrombozyten-funktionsdiagnostik aber eingeschränkte Verfügbarkeit, methodische und präanalytische Probleme**
- **THROMKID-Projekt:** Erarbeitung von Leitlinien zur Diagnostik und Therapie hereditärer Thrombozytopathien (www.awmf.org)

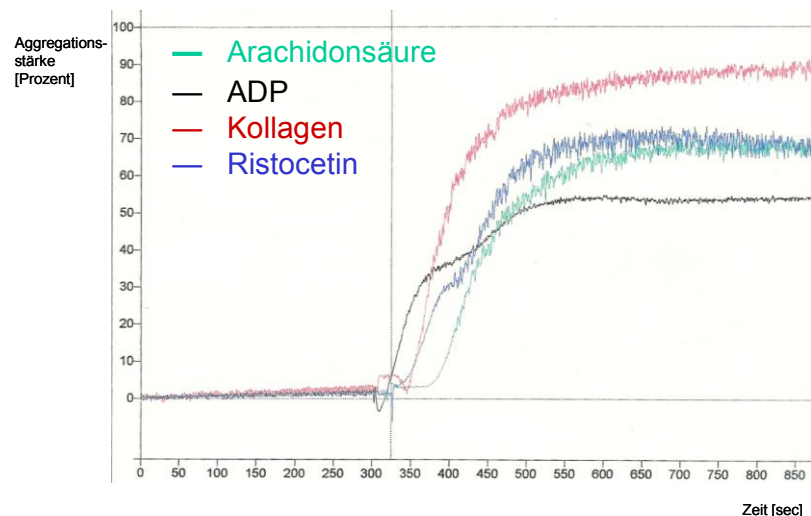
- **2001 bis 2013** in Gerinnungsambulanz Vorstellung von **17 Kinder mit Blutungsneigung unter Misshandlungsverdacht** (13 Jungen, 4 Mädchen; **mittleres Alter: 19 Monate** (3 Wochen – 6,5 Jahre))
- bei **16 Patienten Hämatomneigung**, bei **2 kombiniert mit petechialen Hautblutungen**, bei **2 mit Hirnblutungen** und **1 mit Blut im Stuhl**
- **13 Kinder ohne Begleitverletzungen**; bei 2 Fraktur, bei 2 diffuse Hirnkontusion
- bei **5 Kindern mit Hämatomneigung hereditäre Thrombozytopathie diagnostiziert** (Aspirin-like-Defekt n=4, Verdacht auf Kollagenrezeptor-Defekt n=1)



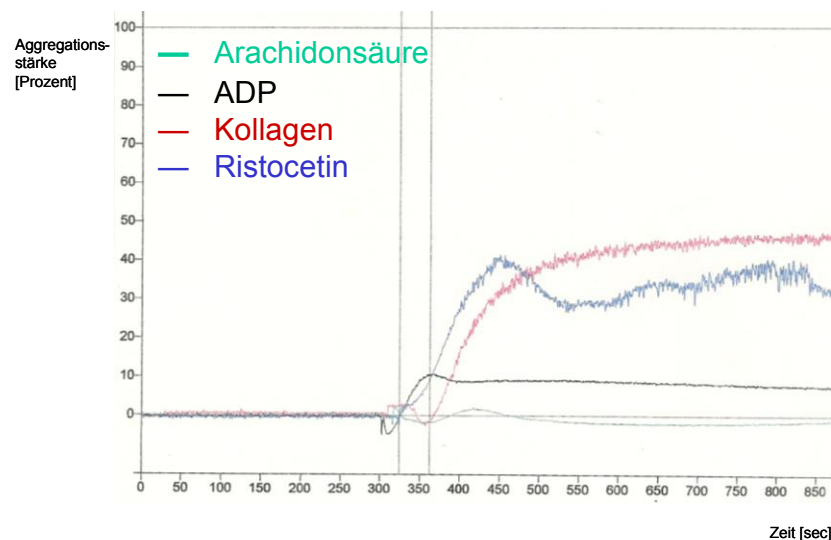
PLA₂ – Phospholipase A₂; COX – Cyclooxygenase;
TXS – Thromboxan-Synthase

- keine Einnahme von ASS und NSAR mindestens 14 Tage vor Blutentnahme
- fehlende (0 - 5%) oder deutlich reduzierte (6 - 10%) maximale Aggregationsresponse der Thrombozyten auf Arachidonsäure (Normbereich: 60 – 90%)
- Reproduzierbarkeit der Aggregationsbefunde
- Ausschluss anderer Gerinnungsstörungen (insbes. Von Willebrand Erkrankung)

- verlängerte PFA 100[®] Verschlusszeit mit einer oder beiden Messzellen
- verminderte Aggregationsresponse auf Adenosindiphosphat
- verlängerte *in vivo* Blutungszeit

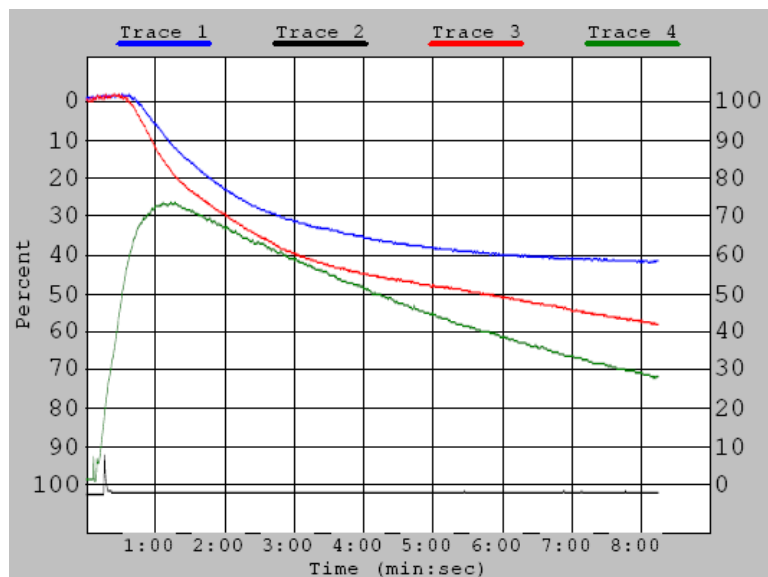


Normalbefund:
 Thrombozytenaggregation
 mit allen Agonisten im
 Normbereich von 60-90%

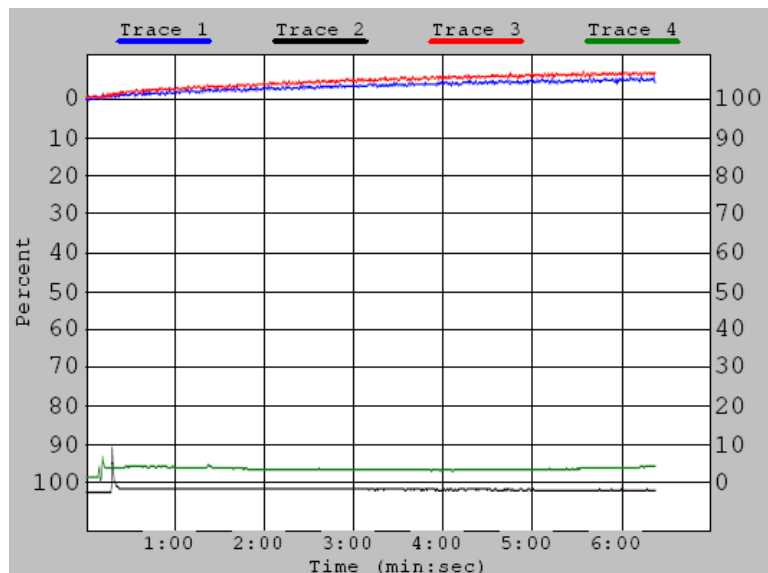


Aspirin-like Defekt:
 Fehlende Thrombozyten-
 aggregation mit Arachidon-
 säure (<5%), vermindert mit
 ADP (10%)

Agonisten-Endkonzentrationen: Arachidonsäure 500 µg/ml; ADP 4 µmol/l;
 Kollagen 10 µg/ml; Ristocetin 1,5 mg/ml



Normalbefund:
 Aggregation und ATP-
 Freisetzung mit
 Arachidonsäure (0,5 mmol/l)



Aspirin-like Defekt:
 fehlende Aggregation und
 ATP-Freisetzung mit
 Arachidonsäure (0,5 mmol/l)

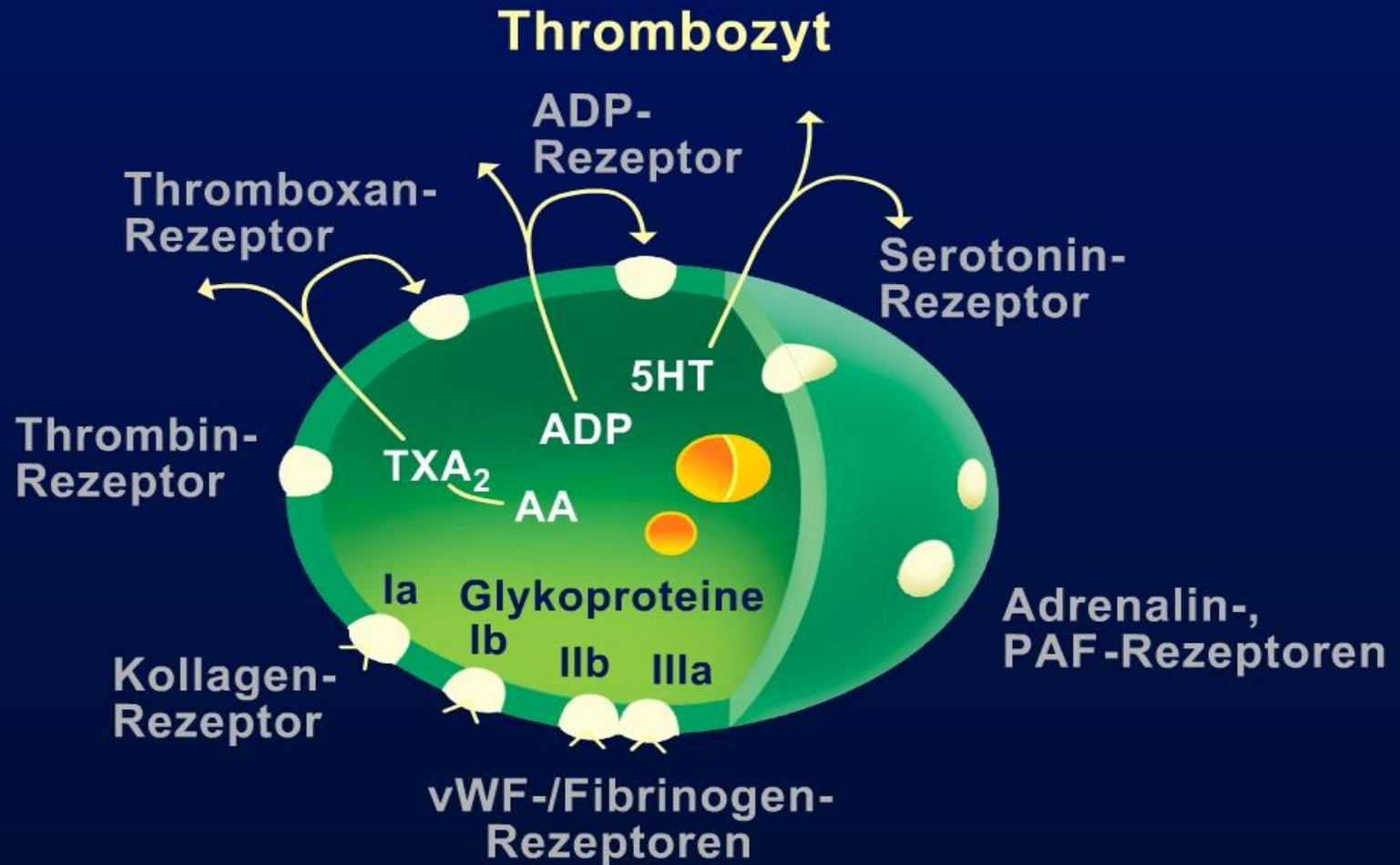
		Patientenanzahl
Gesamt		30
Art der Blutungssymptome	Epistaxis	14
	Hämatomneigung	11
	Nachblutung bei OP/Zahnextraktion	8
	Menorrhagie	4

Rolf N., Knoefler R., Bugert P., Gehrish S., Siegert G., Kuhlisch E., Suttorp M. Clinical and laboratory phenotypes associated with the aspirin-like defect: a study in 17 unrelated families. British Journal of Haematology 144 (2009), 416-424

Rolf N., Bugert P., Gehrish S., Siegert G., Suttorp M., Knöfler R. Clinical and laboratory aspects of the Aspirin-like defect as hereditary thrombocytopathy. Hämostaseologie 29 (2009), 177-183

Thrombozytenaufbau

© Arcis Verlag · G. Hellige 2002



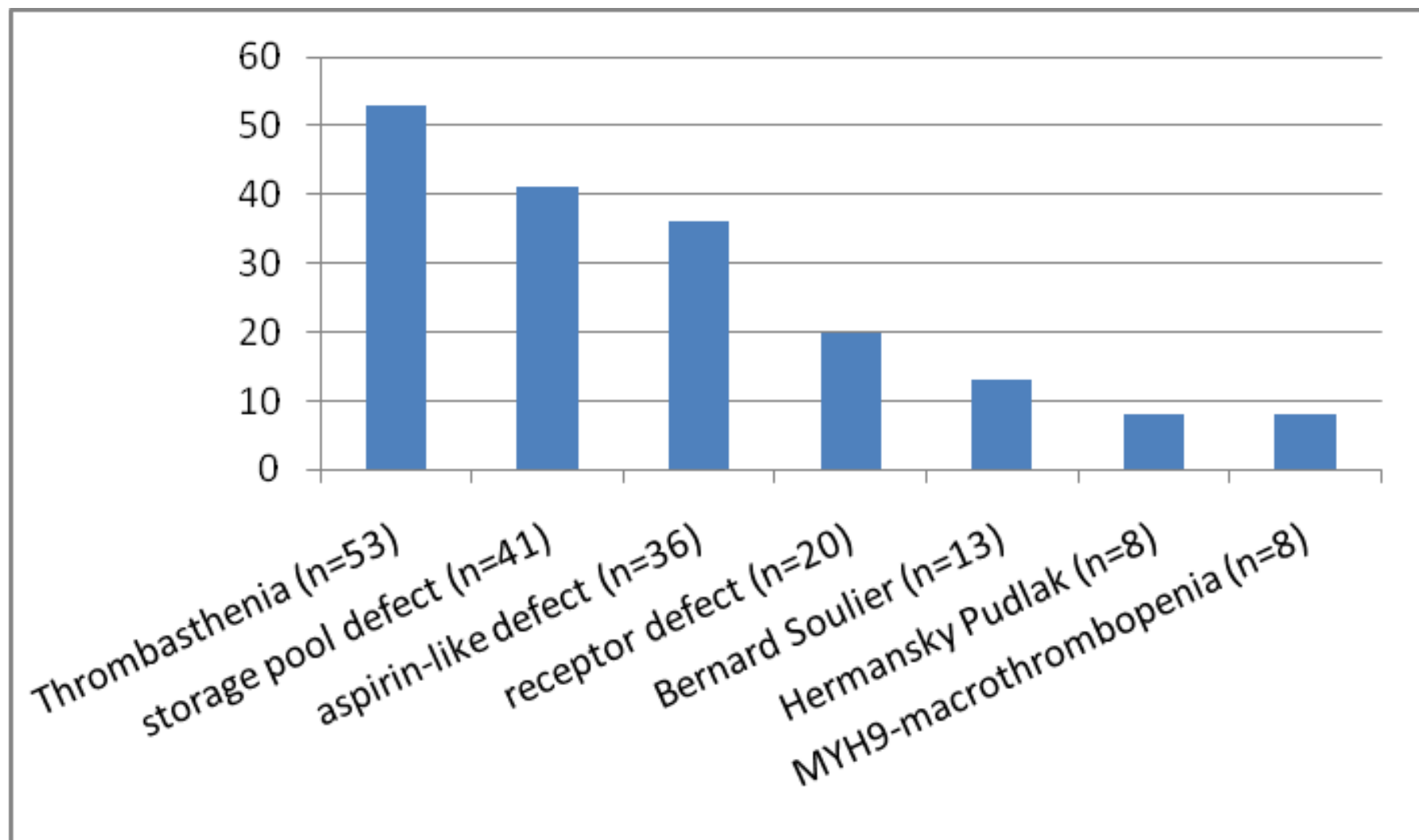
ANGEBOREN

- Defekte der Thrombozytenrezeptoren
 - z.B. *Thrombasthenie Glanzmann, Bernard Soulier Syndrom*
- Defekte der Thrombozytengranula
 - z.B. *Freisetzungsstörungen (storage pool)*
- Defekte der Signaltransduktion
 - z.B. *Aspirin-like Defekt*
- Defekte des nicht-muskulären Myosins vom Typ IIa
 - z.B. *Fechtner Syndrom*

ERWORBEN

- medikamentös induziert
- Myelodysplasien, myeloproliferative Syndrome
- im Rahmen anderer Grunderkrankungen:
 - *Diabetes mellitus, Leber- und Autoimmunerkrankungen*

	primäre Hämostasestrg. Thrombopenie, -pathie, VWE	sekundäre Hämostasestrg: Plasmatische Ger.störung	Vasopathie
<u>Sichtbare Blutung</u> Petechien Purpura Ekchymosen Hämatome Menorrhagie	Häufig Häufig Häufig Häufig Häufig	Nein Nein Selten Häufig -----	Häufig Häufig Häufig Nein Nein
<u>Verdeckte Blutung</u> Gelenk/Muskel	Selten	Häufig	Nein
<u>Zeitpunkt der Blutung</u>	Sofortblutung	oft Spätblutung (nach Stunden)	Keine Blutung



266 Patienten in 31 Zentren; gesicherte Diagnosen bei 179

Gesamtverantwortlich:

Werner Streif, Ralf Knöfler, Wolfgang Eberl

Abschnittsverantwortlich für diagnostische Leitlinie:

Screeningmethoden – Wolfgang Eberl; Aggregometrie –
Ralf Knöfler; Durchflusszytometrie – Harald Schulze

Koautoren:

T. Bakchoul, F. Bergmann, S. Gehrisch, Ch. Geisen, S.
Gottstein, S. Halimeh, U. Harbrecht, G. Kappert, C. Kirchmaier,
B. Kehrel, W. Lösche, M. Krause, R. Mahnel, O. Meyer,
A. Pilgrimm, D. Pilliteri, H. Rott, S. Santoso, A. Siegemund,
C. Schambeck, M. Scheer, M. Schmugge, T. Scholl, G. Strauss,
B. Zieger, R. Zotz

- Durchführung einer Thrombozytenfunktionsdiagnostik wohnortnah mit etablierten und zuverlässigen Methoden
- Thrombozytenfunktionsdiagnostik als Bestandteil eines diagnostischen Stufenschemas
- Erleichterung der Erarbeitung von laborinternen SOPs für die wichtigsten Tests

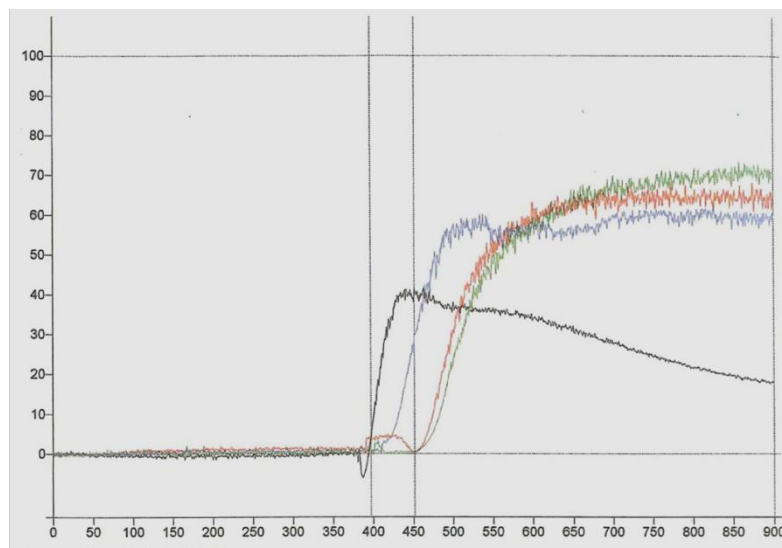
- Schema zur stufenweisen Gerinnungsdiagnostik bei unklarer Blutungsneigung
- Screeningmethoden (Blutbild, mikroskopische Blutausstrichbeurteilung, Thrombozyten-Volumen und -verteilungskurve, *in vivo* BZ, PFA 100®-Test)
- Aggregometrie (Lichttransmissionsaggregometrie, Impedanzaggregometrie, luminometrische Bestimmung der ATP-Freisetzung)
- Durchflusszytometrie
- molekulargenetische Methoden
- Tabelle zu Entitäten mit Symptomen, typischen Labor- und genetischen Befunden

Anzahl der Laboratorien (n=36)

turbidimetrische Aggregometrie	34 (94%)
Impedanzaggregometrie	9 (25%)
Thrombozytenadhäsionstest	4 (11%)
Luminometrie	5 (14%)
Serotonin-Freisetzungstest	3 (8%)
PFA-100® Test	28 (78%)
<i>in vivo</i> Blutungszeit	19 (53%)
Durchflusszytometrie	26 (72%)
Malondialdehydassay	1 (3%)
Thrombelastographie (incl. ROTEM®)	7 (19%)
Gerinnself retraktionstest	2 (6%)
Elektronenmikroskopie	4 (11%)
molekulargenetische Methoden	3 (8%)



- Messprinzip:
turbidimetrisches
Verfahren
nach BORN
- Parameter:
maximale Aggregation
und Desaggregation
- Induktoren:
 - ADP
 - Arachidonsäure
 - Kollagen
 - Ristocetin



Erkrankung	ADP	Kollagen	Arachidonsäure	Ristocetin
Thrombasthenie Glanzmann	↓ - 0	↓ - 0	↓ - 0	N
Bernard-Soulier Syndrom	N	N	N	↓ - 0
Aspirin-like Defekt	N - ↓	N	↓ - 0	N
Storage Pool Defekt	N - ↓	N - ↓	N	N

↓: vermindert

0: fehlend

N: normal

- **Basisuntersuchungen: Blutbild** mit Diff.Blutbild, mikroskopische **Blutausstrichbeurteilung**, **Thrombozytengrößenverteilungskurve** und **-volumen**
- **mit Einschränkungen geeignet** sind:
 - ***in vivo* Blutungszeit** mit standardisierten Verfahren
 - **PFA 100® Test geeignet zur Diagnose von schweren Störung der Thrombozytenfunktion**, Voraussetzung - Thrombozahl über 100.000/ μ l und normaler Hämatokrit
 - Normalbefund bei korrekter Präanalytik macht schwere Thrombozytopathie unwahrscheinlich
 - verdächtiger oder pathologischer Befund der *in vivo* Blutungszeit und/oder PFA 100 bedarf weiterer Abklärung

Vorschlag für rationalen Einsatz der Durchflusszytometrie:

Negativkontrolle:

IgG1- FITC/ IgG1-PE (gleiche Ig-Subklasse, gleicher Hersteller, oder AK gegen Ag, welches nicht auf Thrombozyten exprimiert ist)

Positivkontrolle:

CD41a- FITC/ CD42b-PE

(-CD31 /CD36 zur Wiederfindung-Referenzrezeptor)

Thrombasthenie Glanzmann

-IgG1- FITC/ IgG1-PE

-CD41b- FITC/ CD61

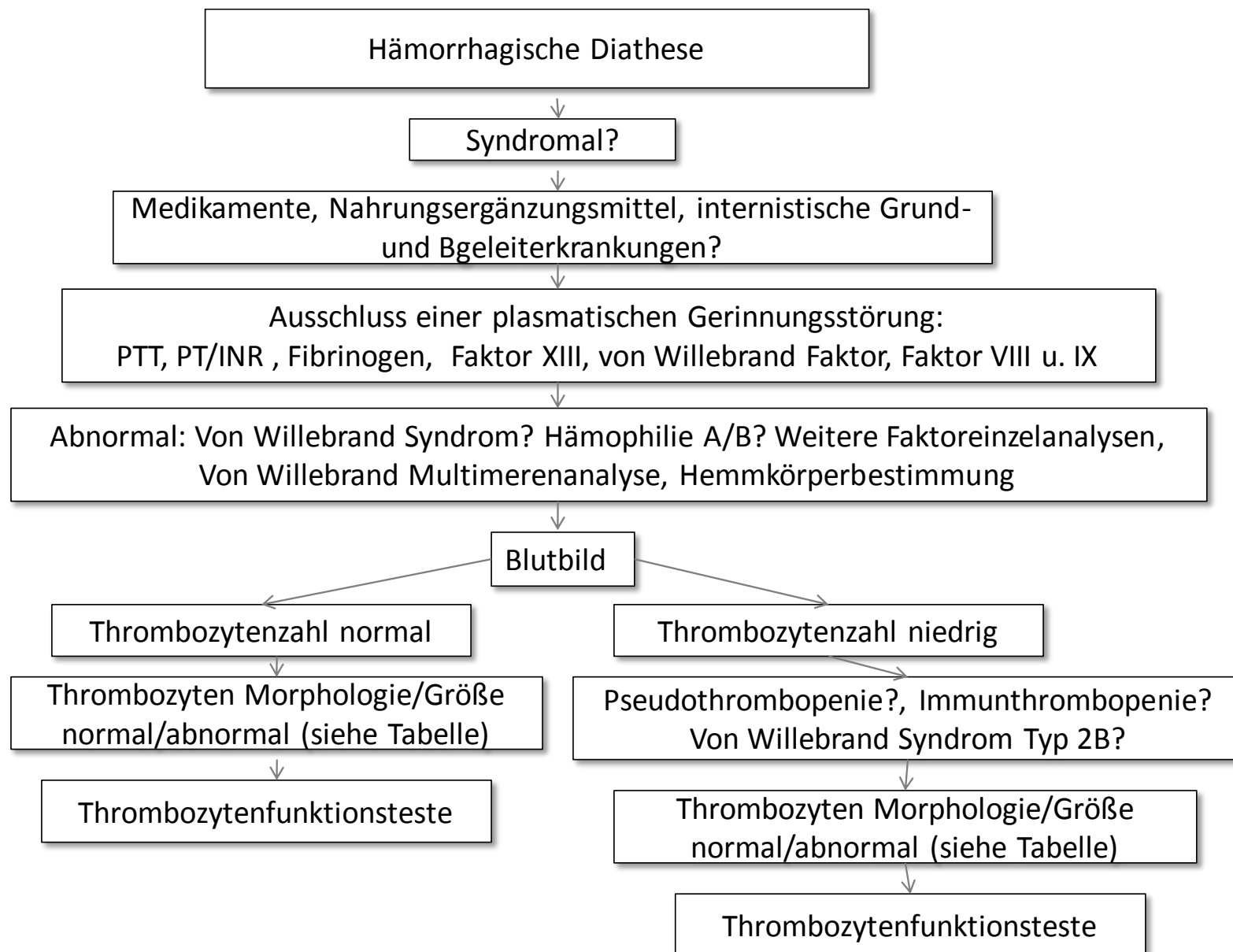
+FSC/SSC

Bernard- Soulier Syndrom:

-IgG1- FITC/ IgG1- PE/ IgG1- PC5/PC7

-CD42a-FITC/ CD42b-PE/ CD42c

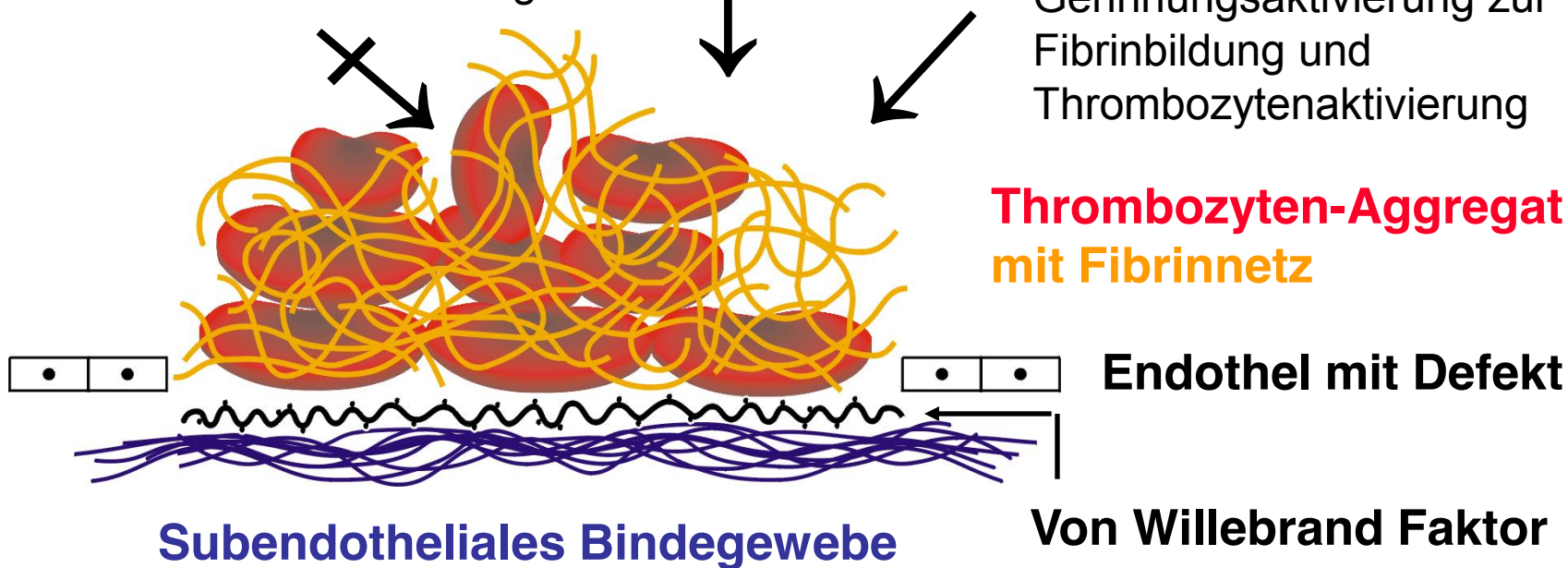
+FSC/SSC



Antifibrinolytika – verhindern Auflösen des Gerinnsels durch Blockade der Plasminwirkung

TbK – Ersatz von Thrombozyten

rekombinanter, aktivierter Faktor VII – führt durch direkte Gerinnungsaktivierung zur Fibrinbildung und Thrombozytenaktivierung



Desmopressin – verbessert primäre und sekundäre Hämostase durch Anstieg des VWF und des Gerinnungsfaktor VIII

Leitlinie zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik erleichtert die Diagnosestellung dieser Erkrankungen

Stufenweises Vorgehen bei unklarer Blutungsneigung mit nachgeordneter Thrombozytenfunktionsdiagnostik

Basisuntersuchungen (z.B. Blutbild, mikroskopische Blutaussstrichbeurteilung) wichtig; *in vivo* Blutungszeit und PFA 100® Test nur eingeschränkt geeignet

Lichttransmissionsaggregometrie als wichtigstes Verfahren der Thrombozytenfunktionsdiagnostik mit sinnvoller Ergänzung durch Durchflusszytometrie, Luminometrie und hochspezialisierten Verfahren wie Molekulargenetik und Elektronenmikroskopie